

2010 Diciembre, 2(2): 1-2

APOPTOSIS: ROL DE LA ANGIOTENSINA II Y LA CaMKII EN ESTADIOS PRE-DISFUNCIONALES EN DOS MODELOS DE INSUFICIENCIA CARDIACA

Velez Rueda JO, Pinilla A, Mattiazzi A, Palomeque J

Centro de Investigaciones Cardiovasculares

e-mail: jvr8234@yahoo.com.ar

Introducción

En la insuficiencia cardiaca (IC) se han encontrado niveles circulantes aumentados de Angiotensina II (Ang II) así como también aumento en la expresión cardiaca de la Proteína Kinasa dependiente de Ca^{2+} y Calmodulina (CaMKII) en su estado activo. Tanto la CaMKII como la Ang II se han vinculado con la apoptosis, uno de los principales mecanismos, que a través de la pérdida de unidades contráctiles, determina la disfunción contráctil observada en el corazón insuficiente. Nosotros hemos descripto recientemente que *in vitro* el incremento en los radicales libres producidos por la Ang II activa a la CaMKII, quien promueve la apoptosis a través de la activación de p38 MAPK; sin embargo no ha sido investigado aun el vínculo entre la Ang II liberada endógenamente en la IC y la activación de la CaMKII con la producción de apoptosis.

Objetivo

Determinar si la producción endógena de Ang II en dos modelos diferentes de IC cursan con activación de la CaMKII y producción de apoptosis.

Materiales y métodos

Se utilizaron ratas espontáneamente hipertensas (SHR) de cuatro meses y ratas Wistar de tres meses tratadas con altas dosis de Isoproterenol (Iso-R) luego de un mes del insulto. En ambos modelos un grupo de ratas fueron tratadas con Enalapril (10mg/kg/día) durante un mes. En todos los casos los animales se sacrificaron a los cuatro meses de edad. Los controles fueron ratas normotensas de igual edad. La aldosterona plasmática se midió por radioinmunoensayo. La presión arterial se registró por el método de la cola. La hipertrofia cardiaca se determinó a través del índice de masa ventricular izquierda (IMVI), evaluado por eco cardiografía; y por el índice del peso del corazón normalizado por la longitud de la tibia (PC/LT). La apoptosis se evaluó a través de TUNEL y de la inmunodetección de las proteínas pro-apoptóticas caspasa-3 y Bax y de la anti-apoptótica Bcl-2. La actividad de CaMKII se determinó a través de la inmunodetección de CaMKII en su estado fosforilado (P-CaMKII) y de PThr¹⁷ de fosfolamban, sustrato de CaMKII. Los inmunoblots fueron normalizados por la señal de GAPDH. Se midió contractilidad y Ca^{2+} por epifluorescencia en miocitos enzimáticamente aislados.

Resultados

Ambos modelos presentaron aumentos significativos, respecto de sus controles, 1) en los niveles de aldosterona plasmática, que se utilizó como índice de activación del sistema renina-angiotensina, de $329.4 \pm 5.8\%$ para las SHR y de $685.8 \pm 29.6\%$ para las Iso-R; 2) en la presión arterial de 84.2 ± 3.7 mm de Hg para las SHR y de 37.7 ± 18.2 mm de Hg para las Iso-R; y 3) en los parámetros de hipertrofia, el IMVI aumentó $39.9 \pm 1.6\%$ en las SHR y $20.4 \pm 1.8\%$ en las Iso-R, y el PC/LT aumentó 7.2 ± 1.7 unidades en las SHR y 4.1 ± 1.6 unidades en las Iso-R. Estos resultados se acompañaron de un aumento en la apoptosis (aumento de células TUNEL positivas de $365.2 \pm 102.3\%$ en las SHR y de $629.9 \pm 140.3\%$ en las Iso-R, y aumento en la inmunodetección de caspasa-3 de $91.1 \pm 18.2\%$ en las SHR y de $199.1 \pm 81.4\%$ en las Iso-R y de la relación Bax/Bcl-2 de 62.0 ± 22.4 en SHR y de 89.4 ± 21.0 en Iso-R) y de la activación de CaMKII (aumento de P-CaMKII de 187.8 ± 60.8 en las SHR y de 50.8 ± 13.0 en las Iso-R; y de P-Thr¹⁷ de $181.2 \pm 34.5\%$ en las SHR y de $181.6 \pm 44.2\%$ en las Iso-R). El tratamiento con Enalapril previno el aumento en todos los parámetros mencionados. Por otro lado, la contractilidad y el manejo del Ca^{2+} fue similar en ambos modelos con respecto a sus controles.

2010 Diciembre, 2(2): 2-2

Conclusiones

Los resultados sugieren que en estadios muy tempranos en el proceso de IC, previamente a la aparición de cualquier indicio de disfunción contráctil, la Ang II liberada endógenamente produce apoptosis *in vivo* a través de la activación de CaMKII.